

**AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK ETIL ASETAT UMBI  
BAWANG PUTIH (*Allium sativum* L.) TERHADAP  
SEL KANKER MCF-7 DAN T47D**



**Disusun sebagai salah satu syarat menyelesaikan Program Studi Strata I pada Jurusan Farmasi**

**Fakultas Farmasi**

**Oleh:**

**KHAEDITAMA PURNAMA ANWAR**

**K 100 150 121**

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA  
2018**

**HALAMAN PERSETUJUAN**

**AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK ETIL ASETAT UMBI  
BAWANG PUTIH (*Allium sativum* L.) TERHADAP  
SEL KANKER MCF-7 DAN T47D**

**PUBLIKASI ILMIAH**

oleh:

**KHAEDITAMA PURNAMA ANWAR**

**K 100 150 121**

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji oleh:

Dosen Pembimbing



**Ratna Yuliani, S.Si, M.Biotech.St**

**NIK. 957**

**HALAMAN PENGESAHAN**

**AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK ETIL ASETAT UMBI  
BAWANG PUTIH (*Allium sativum* L.) TERHADAP  
SEL KANKER MCF-7 DAN T47D**

**OLEH**

**KHAEDITAMA PURNAMA ANWAR**

**K 100 150 121**

**Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji  
Fakultas Farmasi  
Universitas Muhammadiyah Surakarta  
Pada hari Senin, 21 Januari 2019  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat**

**Dewan Penguji:**

- 1. Maryati, Ph.D., Apt  
(Ketua Dewan Penguji)**
- 2. Erindyah Retno W, Ph.D., Apt  
(Anggota I Dewan Penguji)**
- 3. Ratna Yuliani, S.Si, M.Biotech.St  
(Anggota II Dewan Penguji)**

(.....)  
(.....)  
(.....)



**Dekan,**

**Azis Saifudin, Ph.D., Apt**

**NIK. 956**

## **PERNYATAAN**

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam naskah publikasi skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kelak terbukti ada ketidakbenaran dalam pernyataan saya di atas, maka akan saya pertanggungjawabkan sepenuhnya.

**Surakarta, 31 Desember 2018**

Penulis



**KHAEDITAMA PURNAMA ANWAR**

**K 100 150 121**

# AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK ETIL ASETAT UMBI BAWANG PUTIH (*Allium sativum* L.) TERHADAP SEL KANKER MCF-7 DAN T47D

## Abstrak

Kanker payudara merupakan penyakit yang berbahaya dan prevalensinya cukup tinggi di Indonesia. Penggunaan agen kemoterapi memiliki banyak kelemahan terutama dari efek samping yang ditimbulkan, sehingga diperlukan solusi baru untuk meminimalkan efek samping tersebut. Salah satunya dengan memanfaatkan tanaman obat seperti bawang putih (*Allium sativum* L.) yang diketahui memiliki aktivitas sebagai antikanker. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui aktivitas sitotoksik ekstrak etil asetat umbi bawang putih terhadap sel kanker MCF-7 dan T47D serta identifikasi kandungan senyawa didalamnya. Ekstraksi umbi bawang putih dilakukan dengan metode maserasi, analisis kandungan senyawa dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, dan uji aktivitas sitotoksik dilakukan dengan metode MTT-assay. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat umbi bawang putih memiliki efek sitotoksik yang bersifat lemah pada sel T47D dengan nilai  $IC_{50}$  528,535  $\mu\text{g/mL}$  dan tidak memiliki efek sitotoksik pada sel MCF-7. Hasil KLT menunjukkan pada ekstrak terdapat senyawa organosulfur yaitu allisin dengan nilai  $R_f$  0,25 dan sulfida dengan nilai  $R_f$  1.

**Kata Kunci:** *Allium sativum* L, MTT-assay, Sel MCF-7, Sel T47D

## Abstract

Breast cancer is a dangerous disease and the prevalence is quite high in Indonesia. The use of chemotherapy agents has many disadvantages. New solutions are needed to minimize the side effects. One of them is by utilizing herbs such as garlic (*Allium sativum* L.) which is known to have anticancer activities. The purpose of this study was to determine the cytotoxic activity of ethyl acetate extract of garlic on MCF-7 and T47D cancer cells and identify the compounds in it. Extraction of garlic was done by maceration method, identification of compound in the extract was carried out by thin layer chromatography method, and cytotoxic activity test was carried out by MTT-assay method. The results showed that ethyl acetate extract of garlic have a weak cytotoxic effect on T47D cells with  $IC_{50}$  value of 528,535  $\mu\text{g} / \text{mL}$  and did not have cytotoxic effect on MCF-7 cells. TLC showed that the extract contains organosulfur compound allisin with  $R_f$  value of 0,25 and sulphide with  $R_f$  value of 1.

**Keywords:** *Allium sativum* L, MTT-assay, MCF-7 cell, T47D cell

## 1. PENDAHULUAN

Kanker merupakan salah satu penyakit yang paling berkembang di seluruh dunia (Javed *et al.*, 2011). Kanker adalah penyakit akibat pertumbuhan tidak normal pada jaringan tubuh yang mengalami mutasi dan perubahan struktur biokimia (Hejmadi, 2010). Kejadian kanker dapat dikaitkan dengan berbagai faktor lingkungan, sosial, budaya, gaya hidup, hormonal dan genetik (Javed *et al.*, 2011). Pada tahun 2012, sekitar 8,2 juta kematian disebabkan oleh kanker, salah satunya adalah kanker payudara. Berdasarkan data dari Kemenkes RI, prevalensi kanker payudara di Indonesia pada tahun 2013 sebesar 0,5% menempati urutan kedua setelah kanker serviks (Kementerian Kesehatan RI, 2015). Agen kemoterapi merupakan salah satu pengobatan yang banyak digunakan dalam terapi kanker.

Pengobatan kanker dengan kemoterapi masih memiliki kelemahan karena selain membunuh sel kanker juga mempengaruhi sel-sel normal dan menghasilkan efek samping seperti kelelahan, mual, muntah, rambut rontok, bahkan pada kasus yang parah dapat menyebabkan kematian. Dengan beragamnya efek samping yang timbul akibat pengobatan secara medis tersebut, maka dibutuhkan penemuan pengobatan baru yang selektif membunuh sel kanker tanpa mempengaruhi sel normal (Aslam *et al.*, 2014). Pengobatan tersebut diantaranya dengan memanfaatkan obat-obatan dari bahan alam. Salah satu tanaman yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai obat antikanker adalah bawang putih.

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol umbi bawang putih memiliki aktivitas sitotoksik pada U-937, Jurkat Clone E6-1, dan K-562 dengan nilai  $IC_{50}$  berturut-turut sebesar  $105 \pm 2,21$ ;  $489 \pm 4,51$ ;  $455 \pm 3,13$   $\mu\text{g/mL}$  (Jasamai *et al.*, 2016). Ekstrak etanol umbi bawang putih memiliki nilai  $IC_{50}$  pada MCF-7, PA-1, dan A-549 berturut-turut sebesar  $6 \pm 1$ ;  $15 \pm 1$ ;  $28 \pm 1$   $\mu\text{g/mL}$  (Nema *et al.*, 2014). Fraksi polar umbi bawang putih memiliki nilai  $IC_{50}$  pada sel T47D sebesar 6,37 mg/mL (Medisusyanti, 2017).

Bawang putih (*Allium sativum* L.) merupakan agen terapeutik dan obat herbal yang diketahui mempunyai aktivitas antikanker (Szychowski *et al.*, 2016). Bawang putih mengandung senyawa organosulfur yang mampu mengikat senyawa karsinogen (Borek, 2001). Senyawa organosulfur dalam umbi bawang putih adalah ajoen, allisin, allilpropil, diallil, trisulphida, allilsistein, vinildithiins, S-allilmercaptosistein. Allisin mampu menghambat pembentukan nitrosamina suatu karsinogen kuat yang terbentuk di dalam saluran pencernaan. Ajoen mampu menginduksi peroksida sel dan mengaktifkan nuklear faktor  $\kappa\text{B}$  yang akan menyebabkan sel kanker leukemia mengalami apoptosis (Hernawan *et al.*, 2003). Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas sitotoksik

ekstrak etil asetat umbi bawang putih terhadap sel kanker payudara MCF-7 dan T47D serta golongan senyawa yang terkandung didalamnya.

## **2. METODE**

### **2.1 Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu neraca analitik (Ohaus), almari pengering, corong Buchner, *rotary evaporator* (Heidolph), *waterbath* (Mettler), kulkas, lemari asam, lampu UV, sonikator (Branson), vorteks (Maxi mix II), inkubator CO<sub>2</sub> (Binder), *Laminar Air Flow/LAF* (ESCO), mikroskop (Olympus), hemositometer, *counter*, *ELISA reader* (Biotek ELX 800), bejana maserasi, gelas Beaker, pipet Pasteur, gelas ukur, cawan porselin, botol Schott Duran, *conical tube*, batang pengaduk, sendok tanduk.

### **2.2 Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu umbi bawang putih dari Tawamangu, etil asetat, heksan, dimetil sulfoksida (DMSO), kertas saring, silika GF<sub>254</sub>, larutan 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid (MTT), Sel MCF-7 dan T47D, Bufer Fosfat Salin (PBS), tripsin-EDTA, *Fetal Bovine Serum* (FBS), penisilin-streptomisin, media kultur (MK) *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM) dan *Roswell Park Memorial Institute* (RPMI), Sodium Dodesil Sulfat (SDS) 10% dalam 0,01 N HCl, aluminium foil, *microtube*, *96-well plate*, *yellow tip*, *blue tip*, *white tip*, reagen semprot vanillin-asam sulfat, reagen Dragendorff, dan KOH 10%.

### **2.3 Ekstraksi Umbi Bawang Putih**

Umbi bawang putih sebanyak 1 kg diiris kemudian dikeringkan di dalam almari pengering pada suhu 50°C selama 24 jam. Umbi bawang putih yang telah kering kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender dan disaring hingga menjadi bubuk (*simplisia*). Sebanyak 100 gram *simplisia* diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etil asetat sebanyak 800 mL selama 3 hari pada suhu ruang. Hasil maserasi kemudian disaring dan *solventnya* diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dan *waterbath* pada suhu 60°C sehingga diperoleh ekstrak kental.

### **2.4 Analisis Kandungan Senyawa Ekstrak Etil Asetat Umbi Bawang Putih**

Kandungan senyawa dalam ekstrak etil asetat umbi bawang putih diidentifikasi menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) dengan menggunakan fase diam silika GF<sub>254</sub> dan fase gerak

toluen:etil asetat (100:30). Ekstrak etil asetat umbi bawang putih dilarutkan dengan etil asetat. Larutan ekstrak ditotolkan sebanyak tiga kali pada fase diam, totalan kemudian dielusi dalam bejana yang sudah berisi fase gerak. Setelah terelusi, silika dikeringkan dalam suhu ruang selama 5 menit. Bercak kromatogram yang dihasilkan pada KLT dihitung nilai Rf-nya menggunakan rumus:

$$R_f = \frac{\text{Jarak elusi zat terlarut (cm)}}{\text{Jarak elusi pelarut (cm)}} \quad (1)$$

Plat KLT disemprotkan dengan reagen semprot vanillin-asam sulfat, Dragendorff, dan KOH 10%.

1. Reagen semprot vanillin-asam sulfat untuk mendeteksi senyawa organosulfur. Warna yang dihasilkan adalah Coklat (Dharsini *et al.*, 2017).
2. Reagen Dragendorff untuk mendeteksi senyawa alkaloid. Warna yang dihasilkan adalah coklat atau coklat keoranyean (Wagner and Bladt, 1996).
3. NaOH untuk mendeteksi kuinon. Warna yang dihasilkan adalah merah (Febrinasari, 2016).

## 2.5 Pembuatan Larutan Stok Ekstrak Etil Asetat Umbi Bawang Putih

Ekstrak etil asetat umbi bawang putih ditimbang kurang lebih 10 mg dengan seksama di dalam *microtube* dan dilarutkan dengan 200  $\mu\text{L}$  DMSO kemudian ditambahkan MK hingga 1000  $\mu\text{L}$ . Konsentrasi larutan sok sebesar 10.000  $\mu\text{g/mL}$ . Selanjutnya dibuat seri kadar ekstrak (50  $\mu\text{g/mL}$ , 100  $\mu\text{g/mL}$ , 200  $\mu\text{g/mL}$ , 400  $\mu\text{g/mL}$ , dan 800  $\mu\text{g/mL}$ ) dengan pengenceran stok dalam DMSO menggunakan MK (DMEM/RPMI) dengan volume akhir 400  $\mu\text{L}$ . Media kultur DMEM digunakan untuk menumbuhkan sel MCF-7, sedangkan media kultur RPMI digunakan untuk menumbuhkan sel T47D.

## 2.6 Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etil Asetat Umbi Bawang Putih

Panen sel dilakukan setelah sel 80% konfluen. Dari hasil perhitungan sel diperoleh jumlah sel hasil panen sebanyak  $106,25 \times 10^4$  sel/mL untuk MCF-7 dan  $89 \times 10^4$  sel/mL untuk T47D. Sel hasil panen ditransfer ke dalam setiap sumuran sebanyak 100  $\mu\text{L}$  dengan kepadatan sel sebanyak  $10^4$  / sumuran. Keadaan sel diamati di bawah mikroskop untuk melihat distribusi sel dan didokumentasikan. Inkubasi dilakukan selama 36 jam untuk sel MCF-7 dan 24 jam untuk sel T47D pada suhu  $37^\circ$ . Media sel dibuang dan ditambahkan 100  $\mu\text{L}$  PBS kedalam semua sumuran yang berisi sel. Selanjutnya PBS dibuang dan ke dalam sumuran diberi perlakuan ekstrak etil asetat umbi bawang putih dengan seri konsentrasi (50  $\mu\text{g/mL}$ , 100  $\mu\text{g/mL}$ , 200  $\mu\text{g/mL}$ , 400  $\mu\text{g/mL}$ , dan 800  $\mu\text{g/mL}$ ), perlakuan kontrol positif metotreksat dengan seri konsentrasi (1,25  $\mu\text{g/mL}$ ; 2,50  $\mu\text{g/mL}$ ; 5,00  $\mu\text{g/mL}$ ; 10,00  $\mu\text{g/mL}$ ; 20,00  $\mu\text{g/mL}$ ), doksorubisin dengan seri konsentrasi (1,5625  $\mu\text{g/mL}$ ; 3,125



µg/mL; 6,25 µg/mL; 12,5 µg/mL; 25 µg/mL), dan kontrol pelarut DMSO dan diinkubasi di dalam inkubator CO<sub>2</sub> selama 48 jam. Menjelang akhir inkubasi, kondisi sel didokumentasikan untuk setiap perlakuan. Media sel dibuang dan cuci dengan 100 µL PBS, selanjutnya PBS dibuang dan ditambahkan 100 µL reagen MTT dengan konsentrasi 0,5 mg/mL ke setiap sumuran. Sel diinkubasi kembali selama 2 jam. Setelah kristal formazan terbentuk, 100 µL reagen *stopper* (SDS 10% dalam 0,01 N HCl) ditambahkan ke setiap sumuran. *Plate* dibungkus alumunium foil dan diletakkan ditempat gelap pada suhu kamar selama semalam. Absorbansi sel diukur menggunakan ELISA *reader* pada panjang gelombang 550 nm. Selanjutnya persentase sel hidup dihitung dan dilakukan perhitungan IC<sub>50</sub>.

Persentase sel hidup dihitung dengan rumus tertentu dari absorbansi yang diperoleh kemudian dicari hubungan regresi linier antara log konsentrasi dengan % sel hidup menghasilkan persamaan  $y = bx + a$ . Nilai IC<sub>50</sub> dihitung dengan cara mensubstitusi nilai 50 pada persamaan  $y$  sehingga diperoleh nilai  $x$  dan nilai IC<sub>50</sub> merupakan antilog  $x$ . Rumus perhitungan % sel hidup sebagai berikut:

Jika absorbansi kontrol pelarut lebih rendah dari absorbansi kontrol sel maka hitung persentase sel hidup dengan rumus berikut:

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(\text{Absorbansi perlakuan} - \text{Absorbansi kontrol media})}{(\text{Absorbansi kontrol pelarut} - \text{Absorbansi kontrol media})} \times 100\% \quad (2)$$

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Tahapan awal dalam penelitian ini adalah ekstraksi. Ekstraksi merupakan suatu proses pemisahan senyawa dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Metode umum dalam ekstraksi tanaman obat meliputi maserasi, perkolasi, digesti, dan sokhletasi (Pandey *et al.*, 2014). Pada penelitian ini digunakan metode maserasi dengan pelarut etil asetat yang memiliki kepolaran menengah. Keuntungan metode maserasi yaitu mudah dan sederhana. Rendemen yang diperoleh dari hasil ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi sebesar 0,63%. Hasil rendemen tersebut menunjukkan bahwa jumlah ekstrak yang diperoleh hanya sedikit. Berbeda halnya dengan ekstraksi yang dilakukan oleh Dharshini (2017) yang menggunakan metode sokhletasi dengan pelarut etil asetat yang memperoleh rendemen sebesar 40%. Jumlah rendemen yang diperoleh menunjukkan bahwa metode sokhletasi menghasilkan rendemen lebih besar dibandingkan metode maserasi. Hal ini dipengaruhi oleh adanya sirkulasi (pergerakan) pelarut. Adanya faktor sirkulasi pelarut yang dilakukan berulang-ulang pada metode sokhletasi dapat meningkatkan laju perpindahan senyawa

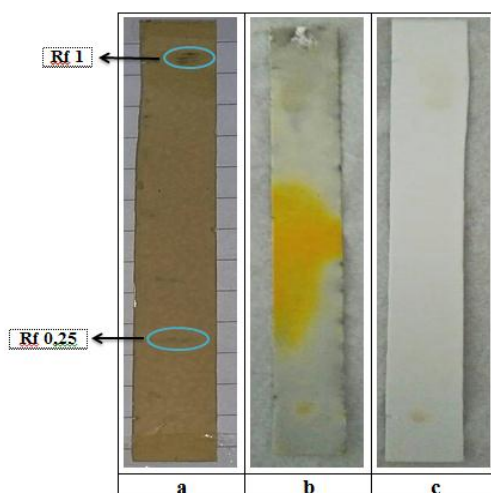
dari ekstrak etil asetat umbi bawang putih. Dengan demikian kontak zat terlarut (solut) dalam sampel dengan pelarut semakin sering dan diperoleh ekstrak yang lebih banyak (Nurhasnawati *et al.*, 2017).

Kandungan senyawa dalam ekstrak etil asetat umbi bawang putih diidentifikasi menggunakan metode kromatografi lapis tipis. Fase diam yang digunakan adalah silika gel GF<sub>254</sub> yang memiliki sifat polar dan fase gerak yang digunakan adalah toluene:etil asetat dengan perbandingan 100:30 (Wagner and Blatt, 1996). Pemilihan metode kromatografi lapis tipis didasarkan pada kemudahan penggunaannya, peralatan yang sederhana sehingga tidak membutuhkan biaya yang tinggi, serta membutuhkan waktu yang relatif singkat untuk analisis (Rachman *et al.*, 2017).

Kandungan senyawa dalam ekstrak etil asetat umbi bawang putih ditentukan dengan membandingkan nilai R<sub>f</sub> hasil pengujian dengan R<sub>f</sub> hasil penelitian lain dengan menggunakan fase gerak dan fase diam yang sama. Visualisasi senyawa dilakukan dengan menggunakan reagen semprot seperti Dragendorff, KOH 10%, dan vanillin-asam sulfat. Gambar 1 menunjukkan hasil KLT yang diamati pada sinar tampak, UV<sub>254</sub>, dan UV<sub>366</sub> nm sebelum dilakukan penyemprotan. Pada sinar tampak menunjukkan adanya bercak pada plat KLT yang berwarna orange, pada UV<sub>254</sub> nm terlihat adanya pepadaman, dan pada UV<sub>366</sub> nm menunjukkan adanya bercak yang berfluoresensi merah muda.



Gambar 1. Hasil KLT ekstrak etil asetat umbi bawang putih dengan fase gerak toluen:etil asetat (100:30) dan fase diam silika GF<sub>254</sub> pada sinar tampak (a), UV<sub>254</sub> nm (b), dan UV<sub>366</sub> nm (c) sebelum disemprot



Gambar 2. Hasil KLT ekstrak etil asetat umbi bawang putih dengan fase gerak toluen:etil asetat (100:30), fase diam silika GF<sub>254</sub> setelah disemprot dengan vanillin-asam sulfat pada sinar tampak (a), Dragendorff pada sinar tampak (b), dan KOH 10% pada sinar tampak (c)

Tabel 1. Hasil analisis senyawa dalam ekstrak etil asetat umbi bawang putih menggunakan metode KLT

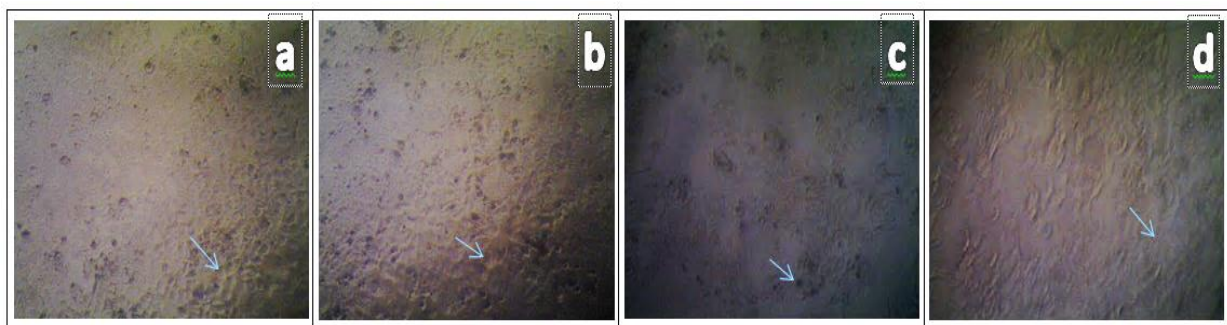
Rf	Sinar Tampak	UV254	UV366	Reagen Semprot			Kandungan senyawa
				Vanillin-asam sulfat	Dragendorff	KOH 10%	
0,25	-	Pemadaman	Merah muda	Coklat	-	-	Allisin
1	Jingga	Pemadaman	Merah muda	Abu-kebiruan	-	-	Sulfida

Visualisasi senyawa dilakukan dengan reagen semprot vanillin-asam sulfat untuk mendeteksi senyawa organosulfur (Gambar 2a). Menurut Wagner and Bladt (1996) senyawa organosulfur seperti allisin akan berwarna abu-abu, abu-keunguan atau coklat dengan kisaran nilai Rf 0,2-0,55 dan fase gerak yang digunakan adalah toluen:etil asetat dengan perbandingan 100:30. Pada Gambar 2a, terlihat adanya bercak yang berwarna coklat setelah disemprot menggunakan vanillin-asam sulfat dengan nilai Rf 0,25 yang mengindikasikan adanya senyawa organosulfur yaitu allisin. Selain itu terlihat adanya perubahan warna dari jingga menjadi abu-kebiruan dengan nilai Rf 1 setelah dilakukan penyemprotan dengan reagen semprot vanillin-asam sulfat yang menunjukkan senyawa sulfida.

Salah satu reagen semprot yang umum digunakan untuk mendeteksi senyawa alkaloid adalah Dragendorff (Wagner and Bladt, 1996). Jika membandingkan hasil KLT sebelum dan sesudah dilakukan penyemprotan dengan Dragendorff, maka tidak terlihat adanya perubahan warna menjadi

coklat pada plat KLT yang diamati pada sinar tampak. Hal ini dapat mengindikasikan bahwa di dalam ekstrak etil asetat umbi bawang putih tidak ditemukan adanya senyawa alkaloid (Gambar 2b). Selain itu dilakukan deteksi senyawa kuinon dengan menggunakan reagen semprot KOH 10% yang ditandai dengan terbentuknya bercak yang berwarna merah pada plat KLT. Namun pada sampel tidak menunjukkan adanya warna merah setelah diamati pada sinar tampak sehingga dapat ditarik kesimpulan bahwa ekstrak tidak mengandung antrakuinon (Gambar 2c).

Uji sitotoksitas adalah suatu proses evaluasi yang telah terstandarisasi untuk menentukan suatu material mengandung bahan yang berbahaya (toksik) secara biologis atau tidak. Uji aktivitas sitotoksik ekstrak etil asetat umbi bawang putih dilakukan dengan menggunakan metode MTT-*assay*. Prinsip metode MTT adalah terjadinya reduksi garam kuning tetrazolium oleh sistem reduktase. Suksinat tetrazolium yang termasuk dalam rantai respirasi dalam mitokondria sel-sel yang hidup membentuk kristal formazan berwarna ungu dan tidak larut air. Penambahan reagen *stopper* akan melarutkan kristal berwarna ini yang kemudian diukur absorbansinya menggunakan ELISA *reader*. Intensitas warna ungu yang terbentuk proporsional dengan jumlah sel hidup. Sehingga jika intensitas warna ungu semakin besar, maka berarti jumlah sel hidup semakin banyak (Cancer Chemoprevention Research Center, 2014).



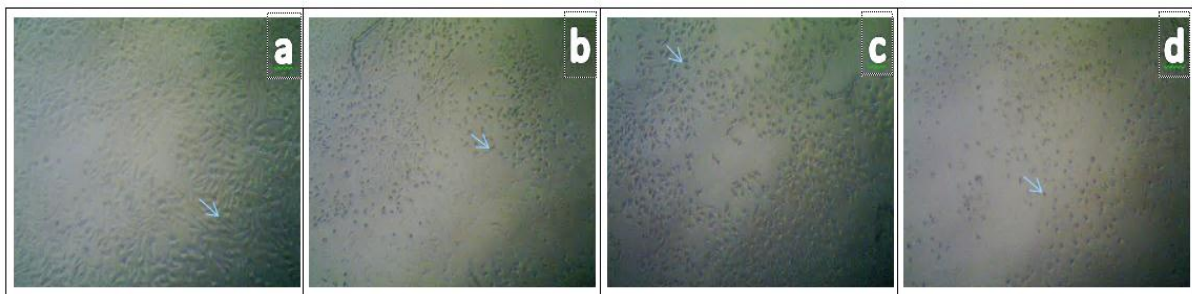
Gambar 3. Morfologi sel MCF-7 pada kontrol sel (a), kontrol pelarut DMSO 1,56% (b), kematian sel akibat perlakuan ekstrak 800  $\mu\text{L/mL}$  (c), perlakuan dengan metotreksat (d), dan tanda panah menunjukkan perubahan morfologi sel MCF-7

Pada uji aktivitas sitotoksik ini digunakan sel MCF-7 dan T47D. Sel MCF-7 dan T47D merupakan dua sel yang secara luas digunakan sebagai model penelitian kanker payudara. Kedua sel tersebut umumnya digunakan secara *in vitro* maupun *in vivo* dalam hal analisis gen, fungsi protein, dan penilaian efektivitas penghambatan dari suatu senyawa (Aka *et al.*, 2012). Perbedaan antara sel MCF-7 dan T47D diantaranya sel MCF-7 merupakan *non-mutant p-53* dan resisten terhadap agen kemoterapi doksorubisin. Sel T47D merupakan *mutant p-53* dan sensitif terhadap agen kemoterapi doksorubisin (Cancer Chemoprevention Research Center, 2014). Pelarut yang digunakan adalah

DMSO yang berguna sebagai eksipien pelarut penambah penetrasi, DMSO mampu membawa molekul kecil melewati kulit dan mukosa (Capriotti *et al.*, 2012).

Pengamatan sel MCF-7 dan T47D dilakukan di bawah mikroskop dengan melihat perubahan morfologi dari kedua sel tersebut. Gambar 3a merupakan kontrol sel MCF-7, dari tanda panah dapat terlihat bahwa morfologi sel MCF-7 berbentuk oval. Pada uji sitotoksik pelarut yang digunakan adalah DMSO. Menurut Purwaningsih (2014) menyatakan bahwa DMSO dengan kadar kurang dari 3% tidak bersifat toksik atau membunuh sel kanker sehingga dapat digunakan sebagai pelarut. Penggunaan DMSO konsentrasi 1,56% tidak mempengaruhi viabilitas dari sel MCF-7. Hal ini terlihat pada tanda panah yang menunjukkan bentuk morfologi sel MCF-7 masih berbentuk oval (Gambar 3b). Gambar 3c merupakan hasil perlakuan ekstrak etil asetat umbi bawang putih menggunakan konsentrasi tertinggi 800  $\mu\text{L/mL}$ , terlihat perubahan morfologi sel MCF-7 dari bentuk awal oval berubah menjadi bintik hitam. Hal ini menunjukkan adanya sedikit penghambatan terhadap sel MCF-7. Sel MCF-7 bersifat resisten terhadap doksorubisin sehingga kontrol positif yang digunakan adalah metotreksat. Tanda panah pada Gambar 3d menunjukkan adanya sedikit perubahan pada morfologi sel MCF-7 menjadi garis-garis kasar.

Persentase sel hidup rata-rata pada konsentrasi terbesar metotreksat (20  $\mu\text{g/mL}$ ) sebesar 82,510 dan persentase sel hidup rata-rata pada konsentrasi terkecil (1,25  $\mu\text{g/mL}$ ) sebesar 78,395. Hasil perlakuan dengan metotreksat menunjukkan persentase sel hidup rata-rata tidak ada dibawah 50%. Hal ini disebabkan karena kesalahan dalam preparasi sampel terutama dalam hal pemipetan. Untuk membuat konsentrasi sampel dengan kadar 20  $\mu\text{g/mL}$  maka diambil 0,0008 mL larutan stok dan ditambahkan media hingga 1 mL. Pengambilan sampel yang terlalu sedikit memungkinkan tidak adanya metotreksat dalam sampel.



Gambar 4. Morfologi sel T47D pada kontrol sel (a), kontrol pelarut DMSO 1,56% (b), kematian sel akibat perlakuan ekstrak 800  $\mu\text{L/mL}$  (c), perlakuan dengan Doksorubisin (d), dan tanda panah menunjukkan perubahan morfologi sel T47D

Tabel 2. Hasil uji sitotoksik ekstrak etil asetat umbi bawang putih terhadap sel MCF-7 dan T47D

Sel	Kadar ekstrak ( $\mu\text{g/mL}$ )	Rata-rata % sel hidup	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ )
MCF-7	50	133,431	-
	100	131,871	
	200	124,951	
	400	132,359	
	800	102,632	
T47D	50	130,695	528,535
	100	127,948	
	200	72,213	
	400	47,011	
	800	46,688	

Uji aktivitas sitotoksik berikutnya dilakukan pada sel T47D. Tanda panah pada Gambar 4a menunjukkan morfologi sel T47D yang berbentuk lonjong. Pertumbuhan sel T47D pada media RPMI sangat baik, hal ini terlihat dari kepadatan dan kecerahan sel yang ditunjukkan pada Gambar 4a. Perlakuan sel dengan pelarut DMSO 1,56% tidak mempengaruhi viabilitas dari sel T47D, dapat dilihat dari tanda panah yang menunjukkan bentuk morfologi sel T47D masih berbentuk lonjong. Tanda panah pada Gambar 4c menunjukkan adanya sedikit kematian sel akibat perlakuan ekstrak etil asetat umbi bawang putih menggunakan konsentrasi tertinggi 800  $\mu\text{L/mL}$  yang menyebabkan perubahan morfologi sel T47D dari bentuk awal lonjong berubah menjadi bintik hitam. Sel T47D bersifat sensitif terhadap agen kemoterapi doksorubisin. Hal ini ditunjukkan pada Gambar 4d yaitu adanya perubahan morfologi sel T47D menjadi bentuk bintik-bintik hitam. Konsentrasi terbesar doksorubisin yaitu (25  $\mu\text{g/mL}$ ) dengan persentase sel hidup rata-rata sebesar 2,182 dan konsentrasi terkecil (1,5625  $\mu\text{g/mL}$ ) diperoleh persentase sel hidup rata-rata sebesar 6,297. Hal ini menunjukkan perlakuan dengan doksorubisin sangat poten karena persentase sel hidup tidak ada yang melewati 50%.

Hasil uji sitotoksik diperoleh dari pembacaan *plate* pada ELISA *reader* dengan panjang gelombang 550 nm. Hasil uji sitotoksik ekstrak etil asetat umbi bawang putih terhadap sel MCF-7 tidak bisa dihitung nilai IC<sub>50</sub> nya, karena % sel hidup rata-rata mulai dari konsentrasi terendah (50  $\mu\text{g/mL}$ ) sampai konsentrasi tertinggi (800  $\mu\text{g/mL}$ ) seluruhnya melewati 50%. Persentase sel hidup rata-rata pada konsentrasi terbesar (800  $\mu\text{L/mL}$ ) sebesar 102,632 sedangkan persentase sel hidup

rata-rata pada konsentrasi terkecil (50  $\mu\text{L/mL}$ ) sebesar 133,431. Hal ini berbeda dengan hasil penelitian Nema (2014) yang menyatakan bahwa ekstrak etanol umbi bawang putih memiliki nilai  $\text{IC}_{50}$  terhadap sel MCF-7 sebesar 6  $\mu\text{g/mL}$ . Perbedaan hasil dapat dipengaruhi oleh beberapa hal diantaranya asal tanaman bawang putih. Sampel umbi bawang putih yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari daerah Tawangmangu, sedangkan penelitian Nema (2014) berasal dari Bhopal India. Pada penelitian ini metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi sedangkan penelitian Nema (2014) menggunakan metode sokletasi. Pada penelitian ini ekstraksi menggunakan pelarut etil asetat sedangkan penelitian Nema (2014) menggunakan pelarut etanol. Berbeda halnya dengan sel MCF-7, hasil uji sitotoksik terhadap sel T47D menunjukkan hasil yang lebih baik. Persentase sel hidup rata-rata pada konsentrasi terbesar (800  $\mu\text{L/mL}$ ) sebesar 49,842 sedangkan pada konsentrasi terkecil (50  $\mu\text{L/mL}$ ) persentase sel hidup rata-rata sebesar 126,518. Hasil perhitungan nilai  $\text{IC}_{50}$  ekstrak etil asetat umbi bawang putih terhadap sel T47D sebesar 528,535  $\mu\text{g/mL}$ . Kedua hasil pengujian dalam penelitian ini mengindikasikan bahwa ekstrak etil asetat umbi bawang putih memiliki efek sitotoksik yang bersifat lemah terhadap sel T47D dan tidak memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel MCF-7. Hal ini mungkin disebabkan karena faktor pelarut yang digunakan sehingga senyawa organosulfur yang terekstraksi tidak optimal. Hal ini dapat terlihat pada hasil KLT yang menunjukkan hanya dua senyawa organosulfur yang terdapat dalam ekstrak etil asetat umbi bawang putih yaitu senyawa allisin dan sulfida.

#### **4. PENUTUP**

Berdasarkan hasil penelitian yang sudah dilakukan, maka ekstrak etil asetat umbi bawang putih bersifat tidak poten terhadap sel T47D dengan nilai  $\text{IC}_{50}$  sebesar 528,535  $\mu\text{g/mL}$  dan tidak memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel MCF-7. Hasil KLT menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat umbi bawang putih mengandung senyawa organosulfur yaitu allisin dengan nilai  $R_f$  0,25 dan sulfida dengan nilai  $R_f$  1.

#### **DAFTAR PUSTAKA**

- Aka J. A., Lin S. X., 2012, Comparison of Functional Proteomic Analyses of Human Breast Cancer Cell Lines T47D and MCF-7, *PLoS ONE*, 7 (2), 1-9.
- Aslam M. S., Naveed S., Ahmed A., Abbas Z., Gull I., Athar M. A., 2014, Side Effects of Chemotherapy in Cancer Patients and Evaluation of Patients Opinion about Starvation Based Differential Chemotherapy, *Journal of Cancer Therapy*, 5, 817-822.
- Azwanida., 2015, A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation, *Medicinal and Aromatic Plants*, 4 (3), 2-6.



- Borek C., 2001, Antioxidant Health Effects of Aged Garlic Extract, *Journal of Nutrition*, 131, 1010-1015.
- Cancer Chemoprevention Research Center, 2014, *Protokol Uji Sitotoksik*, Terdapat di [http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id/?page\\_id=240](http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id/?page_id=240) [Diakses pada 8 Januari 2019].
- Capriotti K., Capriotti J. A., 2012, Dimethyl Sulfoxide History, Chemistry, and Clinical Utility in Dermatology, *The Journal of Clinical and Aesthetic*, 5 (9), 24-26.
- Dharshini H. P., Devi A., 2017, A Study on Extraction of Ajoene From *Allium sativum* and its Applications, *Journal of Medicinal Plants Studies*, 5 (5), 111-116.
- Febrinasari N., Wijayanti R., Apriadi A., 2016, Uji Stimulansia Ekstrak Kulit Umbi Bawang Putih (*Allium sativum* L.) Pada Mencit Galur Swiss/Stimulantia Test Of Garlic Bulb (*Allium sativum* L.) Extract On Swiss Webster Mice, *Jurnal Farmasi Sains Dan Praktis*, 1 (2), 42-49.
- Jasamai M., Hui C. S., Azmi N., Kumolosasi E., 2016, Effect of *Allium sativum* (garlic) Methanol Extract on Viability and Apoptosis of Human Leukemic Cell Lines, *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 15 (7), 1479-1485.
- Javed S., Ali M., Sadia S., Aslam M. S., Masood A. I., Shaikh R. S., Sayyed A. H., 2011, Combined Effect of Menopause Age and Genotype on Occurrence of Breast Cancer Risk in Pakistani Population, *Maturitas*, 69, 377-382.
- Hejmadi., 2010, *Introduction to Cancer Biology*, 2<sup>nd</sup> Edition, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Hernawan U. E., Setyawan A. D., 2003, Review : Senyawa Organosulfur Bawang Putih (*Allium sativum* L.) Dan Aktivitas Biologinya, *Biofarmasi*, 1 (2), 65-76.
- Kaschula C. H., Hunter R., Parker M. I., 2010, Garlic-derived Anticancer Agents: Structure and Biological Activity of Ajoene, *Biofactors*, 36 (1), 78-85.
- Kementerian Kesehatan RI, 2015, *Situasi Penyakit Kanker*, Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Knowles L. M., Milner J. A., 2001, Possible Mechanism by Which Allyl Sulfides Suppress Neoplastic Cell Proliferation, *Journal of Nutrition*, 131, 1061-1066.
- Medisusyanti A. C., 2017, Aktivitas Sitotoksik Kombinasi Ekstrak Etanol Dan Tiga Fraksinya Dari Umbi Bawang Putih (*Allium sativum* L.) Dengan Doksorubisin Terhadap Sel T47D, *Skripsi*, Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Nema R., Khare S., Pradhan A., 2014, Anticancer Activity of *Allium sativum* (Bulb) Polyphenolic Compound, *International Journal of Pharmaceutical Science*, 29 (1), 131-134.
- Nurhasnawati H., Sukarmi., Handayani F., 2017, Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jambu Bol (*Syzygium malaccense* L.), *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 3 (1), 91-95.
- Panday A., Tripathi S., 2014, Concept of Standardization, Extraction and Pre Phytochemical Screening Strategies for Herbal Drug, *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2 (5), 115-119.
- Rachman S. D., Mukhtari Z., 2017, Alga Merah (*Gracilaria coronopifolia*) sebagai Sumber Fitohormon Sitokinin yang Potensial, *Chimica et Natura Acta*, 5 (3), 124-131.



- Szychowski K. A., Binduga U. E., Rybczyn' ska-Tkaczyk K., Leja M. L., Gminski J., 2016, Cytotoxic Effects of Two Extracts from Garlic (*Allium sativum* L.) Cultivars on The Human Squamous Carcinoma Cell Line SCC-15, *Saudi Journal of Biological Sciences*, 30, 30-30.
- Wagner H. and Bladt S., 1996, *Plant Drug Analysis-A Thin Layer Chromatography Atlas (2nd ed)*, Springer, German.